

Impacto do Uso de Óleos Essenciais na Qualidade Microbiológica e Sensorial da Alface



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
201**

**Impacto do Uso de Óleos Essenciais na
Qualidade Microbiológica e Sensorial da Alface**

Terezinha Feitosa Machado
Deborah dos Santos Garruti
Marcia Regia Souza da Silveira
Ídila Maria da Silva Araújo
Monalisa de Sousa Varela
Carlos Alberto de Jesus Filho

***Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2020***

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente
Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Secretária-executiva
Celli Rodrigues Muniz

Secretária-administrativa
Eveline de Castro Menezes

Membros
*Marlos Alves Bezerra, Ana Cristina Portugal
Pinto de Carvalho, Deborah dos Santos Garruti,
Dheyne Silva Melo, Ana Iraidy Santa Brígida,
Eliana Sousa Ximendes, Nívia da Silva Dias*

Revisão de texto
José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica
Rita de Cassia Costa Cid

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
José Cesamildo Cruz Magalhães

Fotos da capa
Monalisa de Sousa Varela

1ª edição
On-line (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agroindústria Tropical

Impacto do uso de óleos essenciais na qualidade microbiológica e sensorial da alface / Terezinha Feitosa Machado... [et al.]. – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2020.

20 p. : il. ; 16 cm x 22 cm – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 201).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. *Lactuca sativa*. 2. Qualidade. 3. Segurança. I. Machado, Terezinha Feitosa. II. Garruti, Deborah dos Santos. III. Silveira, Marcia Regia Souza da. IV. Araújo, Ídila Maria da Silva. V. Varela, Monalisa de Sousa. VI. Jesus Filho, Carlos Alberto de. VII. Série.

CDD 635

Sumário

Resumo.....4

Abstract.....6

Introdução.....7

Material e Métodos.....8

Resultados e Discussão.....11

Conclusões.....17

Referências.....17

Impacto do Uso de Óleos Essenciais na Qualidade Microbiológica e Sensorial da Alfaca

Terezinha Feitosa Machado¹

Deborah dos Santos Garruti²

Marcia Regia Souza da Silveira³

Ídila Maria da Silva Araújo⁴

Monalisa de Sousa Varela⁵

Carlos Alberto de Jesus Filho⁶

Resumo - Os óleos essenciais (OEs) de plantas são geralmente reconhecidos como seguros e dotados de ampla atividade antimicrobiana. Neste estudo, três soluções (cloro a 200 ppm, OEs de folhas de capim-limão e folhas de alecrim-pimenta a 750 ppm e 1.000 ppm, respectivamente) foram comparadas em termos de sua eficácia contra a microbiota natural da alfaca. Foi ainda avaliado o impacto do uso dos óleos na intensidade de sabor estranho ao produto e na aceitabilidade sensorial. As amostras foram mantidas em contato com as soluções sanitizantes por 10 min, e a eficácia do agente sanitizante foi avaliada com base no número de reduções decimais de contagens microbianas. Os resultados mostraram que as soluções de cloro e do OE de capim-limão apresentaram eficácia equivalente na sanitização das amostras, e todas as amostras apresentaram média de aceitação na escala hedônica. Nas características avaliadas (aparência, cor, sabor e intenção de compra), as melhores avaliações foram para as amostras tratadas com cloro, óleo de alecrim-pimenta e óleo de capim-limão, respectivamente. Os resultados indicam que estudos sobre efeitos sinérgicos dos OEs com outras tecnologias

¹ Engenheira de Alimentos, doutora em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

² Engenheira de Alimentos, doutora em Ciências de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

³ Farmacêutica/Bioquímica, mestra em Tecnologia de Alimentos, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

⁴ Bióloga, doutora em Ciências Biológicas, técnica da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

⁵ Graduanda em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

⁶ Graduando em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

de obstáculos devem ser explorados, a fim de alcançar o equilíbrio ideal entre eficácia antimicrobiana e aceitabilidade sensorial do produto.

Termos para indexação: *Lactuca sativa*, qualidade, segurança.

Impact of the Use of Essential Oils on the Microbial and Sensory Quality of Lettuce

Abstract - Essential oils from plants are generally recognized as safe and endowed with broad antimicrobial activity. In this study, three solutions (chlorine at 200 ppm, essential oils of lemon grass leaves and rosemary pepper leaves at 750 ppm and 1,000 ppm, respectively) were compared in terms of their effectiveness against the natural microbiota of lettuce. The impact of the use of oils on the intensity of foreign taste and sensory acceptability was also evaluated. The samples were kept in contact with the sanitizing solutions for 10 min and the efficacy of the sanitizing agent was evaluated based on the number of decimal reductions of microbial counts. The results showed that the solutions of chlorine and lemon grass essential oil showed equivalent efficacy in the sanitization of the samples and all the samples presented average acceptance in the hedonic scale. In the evaluated characteristics (appearance, color, taste and purchase intent), the best evaluations were for the sample treated with chlorine, Rosemary pepper oil, and lemon grass oil, respectively. The results indicate that studies on synergistic effects of essential oils with other obstacle technologies should be explored in order to achieve the ideal balance between antimicrobial efficacy and sensory acceptability of the product.

Index terms: *Lactuca sativa*, quality, safety.

Introdução

O consumo de produtos frescos ou minimamente processados aumentou na última década devido a padrões saudáveis de estilo de vida. Frutas e hortaliças são consideradas componentes importantes de uma dieta saudável pelo seu conteúdo em vitamina C, fibras e antioxidantes. Seu consumo diário pode ajudar a prevenir doenças importantes, como doenças cardiovasculares e certos tipos de cânceres (Boeing et al., 2012).

A presença de microrganismos patogênicos e deterioradores em frutas e vegetais folhosos é reconhecida há tempos, pois inúmeros surtos de doenças transmitidas por alimentos têm sido associados a esses produtos (Painter et al., 2013). Hortaliças frescas, especialmente alface, foram identificadas como portadoras de bactérias patogênicas que são de alta relevância para a saúde pública, como *Salmonella* sp., *Escherichia coli* enteropatogênica, *Listeria monocytogenes*, entre outras (Olaime; Holley, 2012). Portanto, a desinfecção continua sendo um dos pontos críticos mais importantes ao longo da linha de processamento, a fim de garantir a segurança e a qualidade de vegetais minimamente processados (Birmpa et al., 2013).

Atualmente, o cloro é o sanitizante mais utilizado na indústria, embora sua utilização seja proibida em alguns países europeus, como Alemanha, Bélgica, Holanda e Suécia (Rico et al., 2007; Gil et al., 2009). Nas concentrações normalmente empregadas (50 a 200 ppm), o cloro não consegue reduzir mais do que 2 log UFC/g nas populações bacterianas e é ineficaz na redução de patógenos em vegetais (Kim et al., 2011; Oliveira et al., 2012). Além disso, os compostos clorados são corrosivos, causam irritação na pele e trato respiratório e reagem com a matéria orgânica presente na água levando à formação de trihalometanos potencialmente prejudiciais (López-Gálvez et al., 2009; Bhargava et al., 2015).

Os óleos essenciais (OEs) são metabólitos secundários de plantas geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) para consumo por animais e seres humanos (Shah et al., 2012). Eles são promissoras alternativas a desinfetantes químicos contra bactérias transmitidas por alimentos. O efeito antimicrobiano do óleo de manjerição contra bactérias deterioradoras da alface foi comparável à lavagem com 125 ppm de cloro (Wan et al., 1998). Singh et al. (2002) relataram o efeito antimicrobiano do óleo de tomilho na

redução da população de *Salmonella* sp. em alface. Gunduz et al. (2009, 2012) mostraram que as lavagens de alface com 75 ppm de óleo de orégano e 1.000 ppm de óleo de murta foram comparáveis a 50 ppm de cloro na redução da população de *Salmonella* Typhimurium. O óleo de capim-limão a 0,5% (v/v) reduziu *Salmonella* Newport em 1,5 log UFC/g em alface orgânica (Moore-Neibel et al., 2012). Siroli et al. (2015) relataram que os OEs de tomilho e orégano controlaram a microflora contaminante sem comprometer a qualidade sensorial da alface minimamente processada.

Além das preocupações com segurança microbiológica, outras questões relacionadas à qualidade dos produtos frescos incluem parâmetros sensoriais, como aparência, odor, sabor e textura, que devem ser levados em conta ao considerar técnicas de descontaminação, uma vez que são cruciais para a aceitação pelo consumidor (Oliveira et al., 2013; Cunha et al., 2018).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia dos tratamentos de desinfecção com óleos essenciais de capim-limão e alecrim-pimenta sobre a microbiota natural da alface e comparar os efeitos desses tratamentos com os do processo de sanitização do cloro. Além disso, estudos sensoriais foram realizados para avaliar o impacto do uso dos óleos no sabor e na aceitabilidade do produto.

Material e Métodos

Materiais

Amostras de alface crespa (*Lactuca sativa*) foram compradas no dia do experimento de um ponto comercial em Fortaleza, CE. As folhas externas e raízes foram descartadas. Os óleos essenciais de folhas de capim-limão e folhas de alecrim-pimenta foram obtidos da Laszlo (Joinville, SC). O cloro foi obtido a partir de uma solução comercial contendo 2,0 a 2,5 % de hipoclorito de sódio Qboa® (Osasco, SP).

Tratamentos de desinfecção

As soluções antimicrobianas foram preparadas da seguinte forma: (I) água filtrada com hipoclorito de sódio (200 ppm de cloro livre); (II) água filtrada com

1,0 % (v/v) de etanol e óleo essencial de capim-limão numa concentração de 750 ppm; e (III) água filtrada com 1,0 % (v/v) de etanol e óleo essencial de alecrim-pimenta numa concentração de 1.000 ppm. O etanol foi adicionado para solubilizar os óleos essenciais na água. A amostra controle foi lavada com água filtrada sem antimicrobiano por 1 min. As folhas de alface foram imersas nas soluções de tratamento, na proporção produto/solução de 1:15 (p/v), por 10 min com agitação manual. Após aplicação dos tratamentos, as amostras foram centrifugadas (600 rpm/10 min) à temperatura ambiente, transferidas assepticamente para embalagens de tereftalato de polietileno e mantidas a 7 °C por nove dias.

Análises microbiológicas

Em um primeiro experimento, as amostras foram submetidas a análises microbiológicas aos 0, 2, 4, 7 e 9 dias de armazenamento para determinar os níveis de contaminação após a lavagem em água e a redução na contagem microbiana após os tratamentos de sanitização. Foram realizadas contagens de bactérias aeróbias mesófilas e de bolores e leveduras; determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes termotolerantes e presença ou ausência de *Salmonella* sp. Todas as análises microbiológicas foram realizadas segundo recomendações da *Food and Drug Administration* – FDA (2018). As contagens de todos os microrganismos foram expressas em log UFC/g de alface.

Após sanitização, 25 g de folhas de alface foram imediatamente colocadas em um saco para amostra de alimentos estéreis. Posteriormente, foram adicionados 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v) (pH 7,2) para a homogeneização da amostra em *Stomacher* (Modelo 400 Circulator, Seward, Norfolk, England) por 1 min. A partir da amostra obtida, foram preparadas diluições em série com água peptonada 0,1% (p/v) (pH 7,2). A população de mesófilos aeróbicos foi enumerada por plaqueamento em profundidade em placas com ágar para contagem (Beston Dickson, USA). As colônias foram contadas após incubação a 37 °C por 48 h. Bolores e leveduras foram enumerados pelo plaqueamento em superfície de placas contendo ágar dicloran rosa de bengala cloranfenicol (Beston Dickson, EUA). As placas foram incubadas a 21 °C por cinco dias. Para a determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes, alíquotas das diluições seriadas foram

inoculadas em caldo lauril sulfato triptose – LST (Beston Dickson, USA). Os tubos foram incubados a 35 °C/24 h - 48 h e examinados quanto à produção de gás. Em seguida, as culturas positivas foram inoculadas em caldo verde brilhante bile 2% (p/v) – BVB (Beston Dickson, USA) e incubadas a 35 °C/24 h - 48 h. As culturas positivas do caldo BVB foram inoculadas em caldo *Escherichia* EC (Beston Dickson, USA), incubadas a 44 °C/24 h. Os resultados foram expressos em logaritmo do número mais provável por gram (log NMP/g) da amostra analisada. A presença de *Salmonella* foi avaliada pelo pré-enriquecimento da amostra em caldo lactose a 35 °C/24 h; enriquecimento seletivo em caldo tetrationato de sódio e caldo Rappaport a 43 °C/24 h; plaqueamento seletivo diferencial em ágar xilose lisina desoxicolato e ágar entérico de Hectoen a 35 °C/24 h; identificação bioquímica em ágar triplice açúcar e ferro (TSI) e ágar ferro lisina descarboxilase a 35 °C/24 h; e confirmação sorológica pela detecção de antígenos somáticos (poli O) e flagelares (poli H).

Análise sensorial

Testes sensoriais afetivos (Meilgaard et al., 2006) foram realizados com 30 avaliadores, consumidores de alface, que foram solicitados a avaliar a aparência, a cor e o sabor das amostras utilizando uma escala hedônica de nove pontos, variando de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo). Os avaliadores também foram questionados sobre sua intenção de compra se encontrassem o produto à venda, usando uma escala estruturada de 5 pontos, variando de 1 (eu certamente não compraria) a 5 (eu certamente compraria). Foi ainda realizado um teste para medir a intensidade de sabor estranho (qualquer sabor não característico de alface), utilizando-se uma escala linear de 9 cm, variando de 0 = nenhum a 9 = forte. Todos os protocolos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Parecer CONEP nº 3.117.036, 2018).

Para o teste de aparência, as amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas transparentes com tampa, de capacidade 1,8 L, cortadas em tiras e dispostas em uma bandeja codificada com números aleatórios de três dígitos sobre uma bancada em área comum a todos os julgadores. Para fazer sua avaliação, cada julgador abria a tampa e depois fechava. Após o teste de aparência, o avaliador se dirigia às cabines individuais para

realizar o teste de sabor, onde recebia 6 g de alface cortada, acondicionados em embalagens plásticas individuais com tampa, de capacidade 100 mL, servidos juntamente com garfo descartável e um copo com água. As amostras foram servidas simultaneamente, codificadas com números aleatórios de três dígitos e apresentadas de forma monádica e balanceada para minimizar o efeito do posicionamento da amostra.

Análise estatística

As médias das contagens microbianas e o NMP de coliformes obtidos foram convertidos em log UFC/g. Para ter uma visão geral do efeito dos óleos essenciais, tanto nos atributos microbianos quanto nos sensoriais das amostras de alface, foi realizada a análise de variância (ANOVA) em ambos os conjuntos de dados, utilizando-se o software *Statistical Analysis System* (SAS, 2009). As médias foram comparadas pela diferença mínima significativa (DMS), utilizando-se o teste Tukey ao nível de 5% de significância. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa XLSTAT v. 18.01 (Addinsoft).

Resultados e Discussão

Contagem microbiana inicial das amostras avaliadas

As amostras apresentaram contagens iniciais de 6,05 log UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas; 3,78 log UFC/g para bolores e leveduras; 1,42 log UFC/g para coliformes totais; e 1,27 log UFC/g para coliformes termotolerantes (45 °C). Não foi detectada a presença de *Salmonella*.

A Tabela 1 mostra a sobrevivência dos grupos microbianos nas amostras de alface após tratamento com hipoclorito de sódio, OE de capim-limão e OE de alecrim-pimenta. Os tratamentos com OE de capim-limão e hipoclorito de sódio reduziram o nível inicial de bactérias mesófilas (6,05 log UFC/g) em 2,73 e 2,58 log UFC/g, respectivamente, enquanto que o tratamento com OE de alecrim-pimenta não mostrou efeito sobre esse grupo microbiano. Em relação à população de bolores e levedura, o tratamento com hipoclorito de sódio reduziu a contagem inicial em 2,7 log UFC/g, enquanto que nos

Tabela 1. Efeito de tratamentos de desinfecção nas populações de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e levedura, coliformes totais e coliformes termotolerantes em alface^a.

Tratamento (ppm)	Mesófilos aeróbicos (log ufc/g)		Bolores e leveduras (log ufc/g) ^b		Coliformes totais (log ufc/g)		Coliformes a 45 °C (log ufc/g)	
	População	Redução	População	Redução	População	Redução	População	Redução
Água ^b	6,05±0,6	-	3,78±0,43	-	1,42±0,78	-	1,27±1,0	-
Cloro 200	3,47±1,1	2,58	1,08±1,5	2,70	0,3±0,3	1,12	0,3±0,3	0,97
OECL ^c 750	3,32±0,3	2,73	3,66±0,0	0,12	0,87±0,0	0,55	0,56±0,0	0,71
OEAP ^d 1.000	6,34±0,0	+0,3 ^e	2,63±0,21	0,15	2,38±0,0	+0,96	2,38±0,0	+1,11

^a Os valores mostrados são médias de replicatas. ^b Controle. ^c Óleo essencial de capim-limão. ^d Óleo essencial de alecrim pimenta. ^e O valor da redução precedida pelo sinal (+) indica um adicional na contagem microbiana final.

tratamentos com ambos os OEs a redução na contagem de bolores e leveduras foi menor do que 0,2 log UFC/g. Nenhum dos tratamentos eliminou completamente a contagem de bactérias do grupo coliforme. Contudo, entre os três tratamentos avaliados, o tratamento com hipoclorito de sódio foi mais eficaz, reduzindo 1,12 e 0,97 log UFC/g de coliformes totais e termotolerantes, respectivamente. Não foi detectada a presença de *Salmonella*.

Efeito dos tratamentos de desinfecção na evolução da população microbiana

A Figura 1 mostra o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio e dos OEs do capim-limão e alecrim-pimenta sobre as diferentes populações microbianas armazenadas a 7 °C por nove dias. As contagens iniciais variaram entre 3,2 a 6,3 log UFC/g para bactérias mesófilas e entre 1,1 e 3,7 log UFC/g para bolores e leveduras entre os tratamentos aplicados. Por outro lado, as contagens iniciais de coliformes totais variaram entre 0,3 e 2,4 log UFC/g, e as de coliformes termotolerantes entre 0,6 e 2,4 log UFC/g. As populações microbianas nas amostras de alface mostraram evoluções diferentes. As contagens finais de bactérias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes foram em torno de 6,8; 2,2; 1,0; e 3,0 log UFC/g, respectivamente, nas amostras tratadas com hipoclorito de sódio. Enquanto que nas amostras tratadas com o OE de capim-limão o incremento foi em torno de 6,2; 3,7; e 1,0 log UFC/g para bactérias mesófilas, bolores e levedura e coliformes totais, respectivamente, não sendo evidenciada a presença de coliformes termotolerantes nas amostras no período final de estocagem. As amostras tratadas com o OE de alecrim-pimenta apresentaram evolução populacional microbiana similar. Entretanto, os resultados mostraram que as amostras tratadas com esse OE apresentaram as maiores contagens, indicando menor eficácia antimicrobiana entre os tratamentos aplicados.

Efeito dos tratamentos de desinfecção nos atributos sensoriais

A Tabela 2 contém os resultados obtidos na análise sensorial das folhas de alface tratadas com as três soluções sanitizantes, imediatamente após os tratamentos. Todas as amostras, independentemente do sanitizante utilizado,

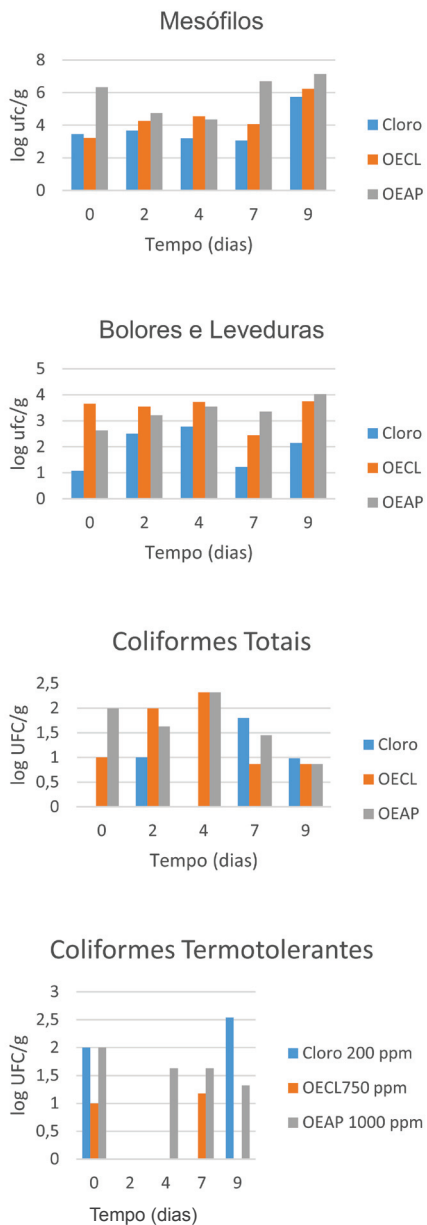


Figura 1. Análise microbiológica de folhas de alface tratadas com cloro, OE de capim-limão (OECL) e OE de alecrim-pimenta (OEAP) armazenadas a 7 °C durante nove dias.

apresentaram médias na região de aceitação da escala hedônica (acima de 5). Entretanto, as amostras tratadas com hipoclorito de sódio apresentaram os maiores valores hedônicos para os atributos aparência e sabor do que as amostras tratadas com os OEs, as quais não diferiram entre si. Em relação à cor, as amostras tratadas com o OE de capim-limão obtiveram maior aceitação do que as tratadas com o OE de alecrim-pimenta e não diferiram significativamente das amostras tratadas com o hipoclorito de sódio.

A avaliação da intensidade de sabor estranho mostrou diferenças entre as amostras submetidas aos diferentes tratamentos. As amostras tratadas com o hipoclorito de sódio apresentaram a menor intensidade de sabor estranho, o que resultou na maior aceitação do sabor em relação às demais amostras. Por outro lado, as amostras tratadas com o OE de capim-limão apresentaram sabor estranho mais intenso.

Em relação à intenção de compra, os melhores resultados foram atribuídos às amostras tratadas com hipoclorito de sódio, com 80% dos provadores relatando uma atitude positiva em relação à compra, contra 47% e 12% para as amostras tratadas com os OEs do alecrim-pimenta e capim-limão, respectivamente.

Tabela 2. Avaliação sensorial de folhas de alfaca tratadas com diferentes sanitizantes.

Tratamento / Concentração (ppm)	Aceitação da aparência	Aceitação da cor	Aceitação do sabor	Intensidade de sabor estranho
Cloro (200)	7,3 a	7,5 a	7,4 a	0,97 c
OECL ¹ (750)	6,5 b	7,0 a	5,6 b	4,78 a
OE AP ² (1.000)	6,4 b	6,3 b	5,4 b	3,11 b

¹ OE de capim-limão. ² OE de alecrim-pimenta. Médias com mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância ($p \geq 0,05$).

Estudar os efeitos de novos sanitizantes em produtos frescos é essencial para sugerir estratégias para aumentar o prazo de validade desses produtos. Os vegetais, incluindo a alface, são geralmente colonizados por uma grande variedade de microrganismos, que tendem a aumentar à medida que o tempo de armazenamento aumenta, independentemente da temperatura ou do tratamento aplicado na conservação (Limdow; Brandl, 2003; Neto et al., 2019; Palma-Salgado et al., 2014). Alguns produtos podem apresentar contagens de bactérias mesófilas extremamente altas devido à contaminação do solo e de outras fontes naturais (Ponce et al., 2011).

Neste estudo, as folhas de alface apresentaram redução nas contagens microbianas imediatamente após tratamentos com hipoclorito de sódio e com o OE de capim-limão. Por outro lado, nas amostras tratadas com o OE de alecrim-pimenta não houve redução dessas contagens. Os níveis de microrganismos aumentaram com o aumento do tempo de armazenamento, independentemente do sanitizante utilizado. A presença de bactérias coliformes termotolerantes em alimentos é frequentemente usada como indicadora de contaminação fecal. No entanto, considerando-se que o grupo coliformes termotolerantes inclui gêneros como *Enterobacter* e *Klebsiella*, que fazem parte da microflora natural das plantas, para produtos vegetais frescos, a presença desses microrganismos não está diretamente relacionada com contaminação fecal (Nascimento et al., 2003). Além disso, água, solo e meio ambiente são fontes de coliformes que podem contaminar esses produtos.

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os relatos de vários autores, os quais mostraram que as populações microbianas de vegetais frescos minimamente processados aumentaram e até atingiram os níveis iniciais da contagem microbiana, ou um número maior ao longo do armazenamento, independentemente do tratamento aplicado (Ponce et al., 2011; Yossa et al., 2013; Neto et al., 2019). Entretanto, considerando-se que a legislação brasileira estipula a ausência de *Salmonella* e 2,0 log UFC/g de contagem máxima aceitável de coliformes termotolerantes para hortaliças frescas, sanificadas e refrigeradas, as amostras neste estudo tratadas pelas soluções sanitizantes dos OEs apresentaram condições higiênicas satisfatórias até o período final de armazenamento. Enquanto que as amostras tratadas com a solução de cloro mostraram-se aptas ao consumo somente até o sétimo dia de armazenamento.

Conclusões

1. Conforme os padrões microbiológicos vigentes, as folhas de alface tratadas com as soluções de OE de capim-limão (750 ppm) e OE de alecrim-pimenta (1.000 ppm) apresentaram condições higiênicas satisfatórias por um período maior (nove dias) do que as folhas de alface tratadas com a solução de cloro (sete dias).

2. As folhas de alface tratadas com os óleos essenciais estudados foram aceitas de forma equiparada ao cloro apenas no tratamento com OE de capim-limão no atributo cor. No geral, a aceitação de OE como tratamento foi inferior ao cloro, refletindo uma baixa intenção de compra. A alta intensidade de sabor estranho para amostras tratadas com OE deve ter contribuído para a baixa intenção de compra.

3. Apesar dos OEs terem sido eficientes contra coliformes termotolerantes, novos estudos com outros OEs, ou estudos sobre efeitos sinérgicos dos OEs com outras tecnologias de obstáculos, devem ser explorados a fim de alcançar eficácia antimicrobiana mais ampla e aceitabilidade sensorial do produto.

Referências

- BHARGAVA, K.; DENISE S. C.; ROCHA, S. R. P.; ZHANG, Y. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. **Food Microbiology**, v. 47, p. 69-73, 2015.
- BIRMPA, A.; SFIKA, V.; VANTARAKIS, A. Ultraviolet light and Ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, p. 96-102, 2013.
- BOEING, H.; BECHTHOLD, A.; BUB, A.; ELLINGER, S.; HALLER, D.; KROKE, A.; LESCHIK-BONNET, E.; MÜLLER, M. J.; OBERRITTER, H.; SCHULZE, M.; STEHLE, P.; WATZL, B. Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. **European Journal of Nutrition**, v. 51, n. 6, p. 637-663, 2012.
- CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. **Parecer CONEP nº 3.117.036**. Disponível em: <<https://conselho.saude.gov.br/recomendacoes/2018/Reco036.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2020.

CUNHA, L. M.; CABRAL, D.; MOURA, A. P.; ALMEIDA, M. D. V. Application of the Food Choice Questionnaire across cultures: systematic review of cross-cultural and single country studies. **Food Quality and Preference**, v. 64, p. 21-36, 2018.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological analytical manual (BAM)**. 2018. Disponível em: <www.fda.gov>. Acesso em: 28 jun. 2018.

GIL, M. I.; SELMA, M. V.; LÓPEZ-GÁLVEZ, F.; ALLENDE, A. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, p. 37-45, 2009.

GÜNDÜZ, G. T.; GÖNÜL, Ş. A.; KARAPINAR, M. Efficacy of myrtle oil against *Salmonella* Typhimurium on fresh produce. **International Journal of Food Microbiology**, v. 130, p. 147-150, 2009.

GÜNDÜZ, G. T.; NIEMIRA, B. A.; GÖNÜL, Ş. A.; KARAPINAR, M. Antimicrobial activity of oregano oil on iceberg lettuce with different attachment conditions. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 7, M412-M415, 2012.

KIM, S. Y.; KANG, D. H.; KIM, J. K.; HA, Y. G.; HWANG, J. Y.; KIM, T.; LEE, S. H. Antimicrobial activity of plant extracts against *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* on Fresh Lettuce. **Journal of Food Science**, v. 76, M41-M46, 2010.

LIMDOW, S. E.; BRANDL, M. T. Microbiology of the phyllosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 4, p. 1875-1883, 2003.

LÓPEZ-GÁLVEZ, F.; ALLENDE, A.; SELMA, M. V.; GIL, M. I. Prevention of *Escherichia coli* cross-contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce. **International Journal of Food Microbiology**, v. 133, p. 167-171, 2009.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4. ed. Boca Raton: CRC, 2006. 464 p.

MOORE-NEIBEL, K.; GERBER, C.; PATEL, J.; FRIEDMAN, M.; RAVISHANKAR, S. Antimicrobial activity of lemongrass oil against *Salmonella enterica* on organic leafy greens. **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, p. 485-492, 2012.

NASCIMENTO, M. S.; SILVA, N.; CATANOZI, M. P. L. M.; SILVA, K. C. Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of Lettuce. **Journal of Food Protection**, v. 66, n. 9, p. 1697-1700, 2003.

NETO, L.; MILLAN-SANGOB, D.; BRINCATC, J. P.; CUNHA, L. M.; VALDRAMIDIS V. P. Impact of ultrasound decontamination on the microbial and sensory quality of fresh produce. **Food Control**, v. 104, p. 262-268, 2019.

OLAIMAT, A. N.; HOLLEY, R. A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. **Food Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 1-19, 2012.

OLIVEIRA, D. C. R.; LEAL, P. A. M.; HONÓRIO, S. L.; SOARES, E. K. B. Sensory quality attributes of lettuce obtained using different harvesting performance systems. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 239-244, 2013.

OLIVEIRA, M.; VIÑAS, I.; ANGUERA, M.; ABBEYS, M. Fate of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in the presence of background natural microbiota on conventional and organic lettuce. **Food Control**, v. 25, p. 678-683, 2012.

PAINTER, J. A.; HOEKSTRA, R. M.; AYERS, T.; TAUXE, R. V.; BRADEN, C. R.; ANGULO, F. J.; GRIFFIN, P. M. Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by using Outbreak Data, United States, 1998 - 2008. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 407-415, 2013.

PALMA-SALGADO, S.; PEARLSTEIN, A. J.; LUO, Y.; PARK, H. K.; FENG, H. Whole-headwashing, prior to cutting, provides sanitization advantages for fresh-cut Iceberg lettuce (*Latuca sativa* L.). **International Journal of Food Microbiology**, v. 179, p. 18-23, 2014.

PONCE, A.; ROURA, S. I.; MOREIRA, M. R. Essential Oils as Biopreservatives: different methods for the technological application in lettuce leaves. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, M34-M40, 2011.

RICO, D.; MARTIN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 373-386, 2007.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. Statistical analysis system **User's guide**. Cary, 2009.

SHAH, B.; DAVIDSON, P. M.; ZHONG, Q. Nanocapsular dispersion of thymol forenhanced dispersibility and increased antimicrobial effectiveness against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in model food systems. **Applied Environmental Microbiology**, v. 78, p. 8448-8453, 2012.

SINGH, N.; SINGH, R.; BHUNIA, A.; STROSHINE, R. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. **LWT Food Science and Technology**, v. 35, p. 720-729, 2002.

SIROLI, L.; PATRIGNANIA, F.; SERRAZANETTI, D. I.; TAPPIA, S.; ROCCULIA, P.; GARDINIA, F.; LANCIOTT, R. Natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed lamb's lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 103, p. 35-44, 2015.

YOSSA, N.; PATEL, J.; MILLNER, P.; RAVISHANKAR, S.; MARTIN LO, Y. Antimicrobial activity of plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on lettuce. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 1, 2013.

WAN, J.; WILCOCK, A.; COVENTRY, M. J. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 152-158, 1998.



Agroindústria Tropical



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL